Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Marburg-Lahn
(Direktor: Prof. Dr. E. Freudenberg)

Die Lipase der Blasengalle des Schafes

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
IN DER GESAMTEN MEDIZIN
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG

vorgelegt von

ERNST TÖPPLER
aus Burgbrohl/Koblenz

MARBURG-LAHN 1935
BUCHDRUCKEREI HERMANN BAUER

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 20. Dezember 1935

Referent: Prof. Dr. Freudenberg.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Meinen Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554421_0069

Die Lipase der Blasengalle des Schafes.

I. Historisches.

Während die modernen Lehr- und Handbücher der Physiologie die Einwirkung der Galle auf die Fettverdauung auf zwei Erscheinungen beschränken, nämlich die Löslichkeitserhöhung der Fettsäuren durch die Gallensäuren und die Aktivierungen der Lipasen von Pankreas und Magen durch dieselben, glaubte die ältere Forschung teilweise auch noch an die Möglichkeit, daß die Gallenflüssigkeit selbst Lipase enthalten könnte.

Ellenberger und V. Hofmeister[1] schrieben der Schaf- und der Rindergalle eine fettspaltende Wirkung zu, die sie der Schweine- und der Hundegalle absprachen. Bei der Rindergalle soll die Fettspaltung auch nicht konstant zur Beobachtung kommen, vielmehr soll diese des öfteren gar kein Ferment enthalten.

Die Methodik der Autoren ist allerdings so, daß sie modernen Ansprüchen nicht mehr genügt. Sie bestand darin, daß die Gallenflüssigkeit mit Wasser, Oel und Lakmustinktur gemischt und der Farbumschlag beobachtet wurde.

1933 wurde durch Freudenberg[2] bei Untersuchungen über die Aktivierungen der Prolipase der Frauenmilch durch Galle als Nebenbefund die Beobachtung gemacht, daß Schafgalle im Gegensatz zu der Galle von Rind, Kalb, Kaninchen, Schwein, den untersuchten Vogel- und Fischgallen Lipasewirkung gegenüber Kuhmilchfett aufwies.

Es lag uns ob, diese Beobachtung genauer zu untersuchen und die Eigenschaften der Lipase der Schafgalle zu beschreiben.

II. Methodik.

Um von der Gefahr des Bakterienwachstums und der Zersetzung der Galle unabhängig zu werden, wurde die frische Blasengalle der Schlachttiere bei 40° im Vakuum getrocknet und von dem so erhaltenen grau-grünen Pulver ausgegangen, von dem die erforderlichen Mengen jeweils in den Ansatz hineingewogen wurden.

Zur Anwendung gelangte Tributyrinspaltung nach dem bekannten Verfahren von Michaelis und Rona[3] unter Berücksichtigung der Reinigung des Tributyrins nach Willstätter und Memmen[4].

Als Pufferungssubstanzen wurden im Optimumbereich (pH 6—8) Phosphatpuffer, im anschließenden sauren Gebiet Acetatpuffer (3—6) und im alkalischen Bereich Glykokoll-Natronlaugepuffer (pH 8—9) benutzt. Die Auswertung der Tributyrinspaltung erfolgte anhand von Eichkurven, welche den entsprechenden Zusatz von durch Hitze inaktivierter Galle enthielten.

Die Verfolgung der Spaltung des Olivenöls geschah ohne Pufferung, indem zu 10 ccm Wasser das Ferment hinzugegeben und nach seiner Auflösung das Oel hinzugefügt wurde. Nach einer Stunde Bebrütung bei 37° wurde das ganze mit Alkohol und Aether gelöst und auf Phenolphthaleinumschlag mittels n/5 alkoholischer Kalilauge titriert. Bei der Lipasewertbestimmung nach Willstätter unter Pufferung auf pH 8,9 kam Thymolphthalein zur Anwendung.

Die Untersuchung des Milchfettes erfolgte nach dem Vorgehen von Freudenberg bei der Frauenmilchlipase, indem die Milch auf den Neutralrotumschlag eingestellt wurde und nach Zufügung des Fermentes in den Thermostaten gebracht, hierauf in viertelstündlichen Intervallen mittels wäßriger n/10 Natronlauge immer wieder auf den Umschlagspunkt eingestellt wurde. In analoger Weise wurde die Spaltung des Triacetins gemessen. Die Konzentrationen der einzelnen Fette sind in den mitgeteilten Versuchen jeweils angegeben.

III. Tributyrinspaltung durch genuine Galle und durch Trockengalle.

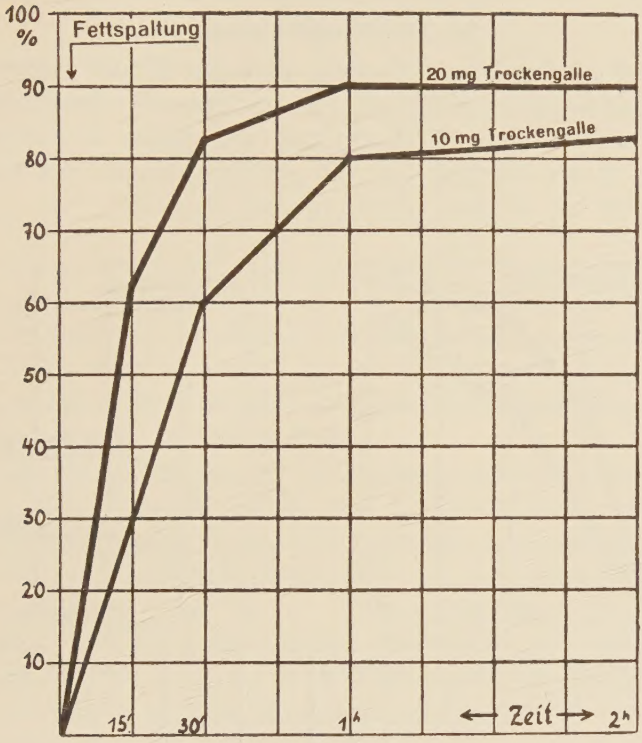

Abb. 1.

Abbildung I. gibt die Tributyrinspaltung durch 10 mg bezw. 20 mg Trockengalle des Schafes auf 10 ccm gesättigter Tributyrinlösung wieder. Abbildung I. gilt angenähert auch für Tributyrinspaltung durch 0,1 ccm bezw. 0,2 ccm genuine Schafgalle auf 10 ccm gesättigter Tributyrinlösung.

Wie ersichtlich ist, spaltet selbst das ungereinigte Fermentpräparat innerhalb 1 Stunde bei 37,5° die gesättigte Fettlösung zu 90% auf.

Der verbleibende Restbetrag ist vermutlich sogar nicht auf ungespaltenes Tributyrin zu beziehen sondern darauf, daß in den hier zugrunde liegenden Eichkurven die Anwesenheit ge-

ringer Mengen von Endprodukten (Mono- und Dibutyrin) nicht berücksichtigt wurde.

IV. Hitzeinaktivierung.

200 mg Trockengalle wurden in 1 ccm Wasser gelöst und in geschlossenem Kölbchen jeweils 1 Stunde Temperaturen von 50°, 60° und 70° ausgesetzt. Von diesen so vorbehandelten Gallen wurden dann die gelösten Mengen von 10 mg bezw. 20 mg 10 ccm Tributyrinlösung zugesetzt.

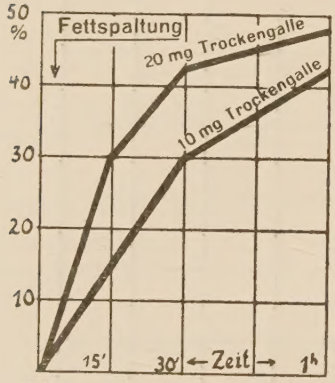

Abb. 2.
1 Stunde bei 50°.

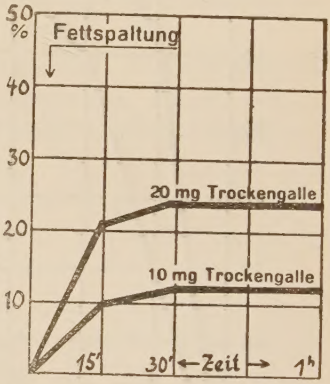

Abb. 3.
1 Stunde bei 60°.

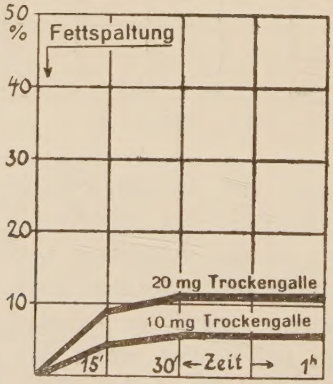

Abb. 4.
1 Stunde bei 70°.

Wie ersichtlich ist, setzt schon die Erwärmung auf 50° die Spaltung auf die Hälfte herab, die Erwärmung auf 60° auf 1/4, während bei Erhitzung auf 70° nur noch 10% des Gesamtumsatzes übrigbleiben.

V. pH-Optimum.

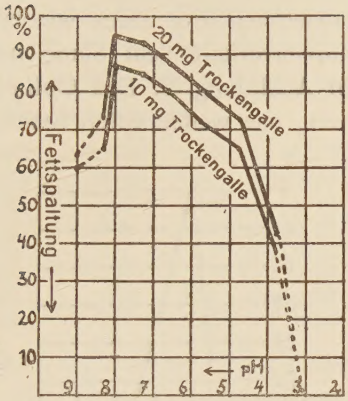

Abb. 5. Fettspaltungskurve für Trockengalle.

Wie ersichtlich, besteht bei pH 8 ein ziemlich scharf hervortretendes Optimum mit steilerem Abfall nach der alkalischen als nach der sauren Seite.

Die Kurvenpunkte bei pH 9 liegen zu hoch, weil bei dieser Reaktionsstufe bereits eine Hydrolyse des Tributyrins durch die Alkalität des Puffers bewirkt wird. Aus diesem Grunde ist in diesem Kurvenbereich die Linie gestrichelt wiedergegeben.

Unterhalb pH 4 liegt infolge Ausflockung des Gallenpräparates eine Störung vor, welche die Genauigkeit der Messung beeinträchtigt; deshalb ist auch in diesem Bereich die Kurvenlinie gestrichelt wiedergegeben.

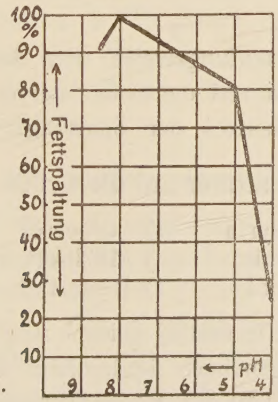

Abb. 6.

Abbildung VI gibt die Spaltung bei Anwendung eines gereinigten (konzentrierten) Präparates wieder. Es ist ersichtlich, daß der Kurvenverlauf dem Sinne nach ungefähr der gleiche ist wie in Abbildung V. Das Optimum ist durch das Reinigungsverfahren, das weiter unten beschrieben wird, nicht beeinflußt.

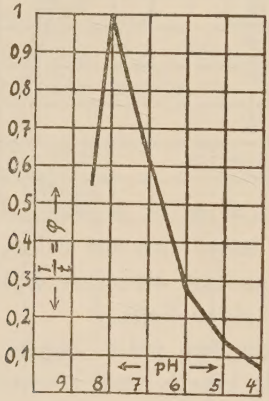

Abb. 7.

Abbildung VII gibt das pH-Optimum durch die von Michaelis aufgestellte Zahl φ wieder, worunter das Verhältnis der zu einer bestimmten Spaltung nötigen Zeiten bei optimaler und variierter Säurestufe verstanden wird.

Die Spaltungszeit bei optimaler Azidität wird als T bezeichnet, diejenige bei variierter pH-Zahl als t.

$$\frac{T}{t} = \varphi$$

Bei dieser Betrachtungsweise tritt das scharfe pH-Optimum bei pH 8 noch viel deutlicher hervor als bei Zugrundelegung des Prozentsatzes der Spaltung.

VI. Einfluß des Substrates auf die Größe des Umsatzes bei:

a) Tributyrin
b) Triacetin
c) Olivenöl
d) Lorbeeröl
e) Milchfett in Milch
f) Butterfett.

Von Tributyrin, Triacetin, Oliven- und Lorbeeröl und Butterfett wurden angenähert äquimolare Mengen in 10 ccm Wasser geschüttelt, 10 mg Ferment zugefügt und nach Zu-

gabe von Neutralrot in Intervallen von jeweils 15' mit n/10 KOH zurückgestellt. Bei der Titration von Oliven- und Lorbeeröl und Butterfett wurde nach Willstätter vorgegangen. Die Spaltung des Milchfettes wurde an einer 12% Edelweiß-Trockenmilchlösung geprüft.

Substrat	Verseifungszahl	g Substanz	Spaltung in 1 Stunde, a) in ccm n/10 KOH	ausgedrückt b) in %
Tributyrin	557	0,77	9,25 ccm n/10 KOH	11,6 %
Triacetin	772	0,6	1,2 ccm n/10 KOH	1,4 %
Olivenöl	181	2,5	2,46 ccm n/10 KOH	3,0 %
Lorbeeröl	144	2,0	1,86 ccm n/10 KOH	3,6 %
Milchfett in Milch	225	0,35	11,6 ccm n/10 KOH	83,0 %
Butterfett	225	2,0	12,6 ccm n/10 KOH	15,75 %

Es muß bei der Vergleichung dieser Zahlen hervorgehoben werden, daß sie alle ohne die Anwendung von Aktivatoren irgend welcher Art gewonnen sind. Es sei hier jedoch sofort bemerkt, daß für Tributyrin durch Aktivatoren wie Albumin und Calciumchlorid Hemmung um mehr als die Hälfte beobachtet wurde, während die Spaltung von Oliven- und Lorbeeröl durch diese Zusätze eine Steigerung erfährt. Daß die Spaltung des Milchfettes den hohen Wert von 83% zeigt, liegt in der Hauptsache daran, daß diese einmal unter außerordentlich günstigen Bedingungen vor sich geht und zu einem geringen Teil daran, daß die Bedingung der äquimolaren Fettmenge außer Acht gelassen werden mußte. Es ist ersichtlich, daß die Spaltung des Butterfettes außerhalb seines ursprünglichen Milieus einen bedeutend niedrigeren Wert ergibt als die Spaltung des Milchfettes in der Milch selbst. Die hier wiedergegebenen Zahlen sind nicht der Ausdruck der wirklichen Fermentstärke. Eine Betrachtung über dieselben wird im Abschnitt IX wiedergegeben.

VII. Konzentrierung.

Der zuletzt benutzte Arbeitsgang sei an dem folgenden Beispiel wiedergegeben: 1 g Trockengalle wurde in 10 ccm einer 2% NH_3-Lösung gelöst; darauf wurden 30 ccm n/1 Essigsäure zugegeben. Die pH-Zahl betrug – 3,87. Dieses Gemisch wurde dann mit 120 ccm Aceton versetzt, kräftig umgeschüttelt und in einem geschlossenen Standgefäß 1—2

Stunden im Eisschrank stehen gelassen. In dieser Zeit bildete sich ein Bodensatz, der mittels Zentrifuge vom Aceton getrennt wird. Dieses Zentrifugat wurde zunächst nochmals mit Aceton gereinigt, d. h. in ca. 30 ccm Aceton aufgeschwemmt und kräftig ausgewaschen. Das Aceton wurde nach Auszentrifugieren abgegossen. Der Rückstand wurde dann nochmals mit Aceton und Aether zu gleichen Teilen ausgewaschen. Nach Auszentrifugieren wurde das so gewonnene, gereinigte und konzentrierte Fermentpräparat in wenigen Kubikzentimetern Aether aufgeschwemmt und zum schnellen Trocknen auf ein Urglasschälchen gegossen. Zur besseren Verarbeitung wurde dieses Präparat ganz fein pulverisiert. Aufbewahrung im Exsikkator.

Das Ergebnis der Konzentrierungsversuche war eine bedeutende Wirkungssteigerung, welche gegenüber dem Tributyrin bis zum 1000 fachen des Ausgangsergebnisses ungereinigten Präparates ging.

VIII. Aktivierungen und Vergiftungen.

A) Aktivierungen.

Ansatz:	Verbrauch an KOH n/5	Fettspaltg.	Aktivierung in %
10 mg konzentr. Ferment 10 ccm Wasser, 2,5 g Olivenöl	1,229 ccm	3%	0%
+ 0,5 ccm peptische Abbauprodukte	1,307 ccm	3,2%	+ 6,6%
+ 0,5 ccm Eieralbumin 3%	1,308 ccm	3,2%	+ 6,6%
+ 20 mg β Benzoylpropionsäure	1,309 ccm	3,2%	+ 6,6%
+ 0,5 ccm tryptische Abbauprodukte	1,376 ccm	3,3%	+ 10 %
+ 20 mg Cholsäure (chem. rein)	1,470 ccm	3,6%	+ 20 %
+ 0,5 ccm Eieralbumin 3% 0,5 ccm $CaCl_2$ 2%	1,560 ccm	3,87%	+ 29 %
+ 0,5 ccm $CaCl_2$ 2%	1,590 ccm	3,87%	+ 29 %

Wie ersichtlich wird die Oelspaltung in geringem Maße durch peptische und tryptische Abbauprodukte und durch genuines Eiweiß gefördert, wesentlich besser aber durch Calciumchlorid.

Die Kombination von Calciumchlorid mit Albumin leistet nicht mehr als Calciumchlorid allein.

Bemerkenswert ist auch die fördernde Wirkung der Cholsäure.

B) Vergiftungen.

Tabelle I.

Ansatz:	Verbrauch an KOH n/5	Fettspaltg.	Hemmung in %
10 mg konzentr. Ferment (F), 10 ccm Wasser, 2,5 g Olivenöl	1,229 ccm	3 %	0 %
+ 1 ccm Alkohol 96 %	1,230 ccm	3 %	0 %
+ 1 ccm Aceton	1,230 ccm	3 %	0 %
+ 5 Tropfen Toluol chem. nicht rein	1,034 ccm	2,56 %	15 %

Tabelle II.

Ansatz:	Verbrauch an KOH n/5	Fettspaltg.	Hemmung in %
10 mg konzentr. Ferment (D), 10 ccm Wasser, 2,5 g Olivenöl	2,440 ccm	6 %	0 %
+ 20 mg Eisenchlorid	0 ccm	0 %	100 %
+ 100 mg Sublimat	0 ccm	0 %	100 %
+ 10 „ „	0 ccm	0 %	100 %
+ 1 „ „	0 ccm	0 %	100 %
+ 0,1 „ „	1,181 ccm	2,8 %	54,4 %
+ 0,01 „ „	2,176 ccm	5,3 %	11 %

Tabelle III.

Ansatz:	Verbrauch an KOH n/5	Fettspaltg.	Hemmung in %
10 mg konzentr. Ferment (F) 10 ccm Wasser, 2,5 g Olivenöl	1,229 ccm	3%	0
+ 100 mg Natriumfluorid	0,146 ccm	0,3%	90 %

Tabelle IV.

Ansatz:	Verbrauch an KOH n/5	Fettspaltg.	Hemmung (−) Aktievierg. +
10 mg konzentr. Ferment (D), 10 ccm Wasser, 2,5 g Olivenöl	2,440 ccm	6%	0
+ 20 mg Cocain	2,323 ccm	5,6%	— 6,6%
+ 20 mg Atoxyl	1,890 ccm	4,6%	— 23,3%
+ 2 mg „	2,833 ccm	6,9%	+ 15 %
+ 0,2 mg „	2,908 ccm	7,1%	+ 18,6%
+ 20 mg Chinin	1,632 ccm	4,0%	— 33,3%
+ 2 mg „	3,152 ccm	7,7%	+ 28,3%
+ 0,2 mg „	2,957 ccm	7,2%	+ 20 %

Es ergibt sich die höchst bemerkenswerte Tatsache, daß das untersuchte Ferment weder durch Chinin noch durch Atoxyl in nennenswertem Maße vergiftet wird. Es kann nur

von schwächeren Hemmungen bei sehr hohen Giftmengen die Rede sein.

Sehr niedrige Chinin- und Atoxylkonzentrationen ergeben sogar im Gegenteil eine geringe Förderung des Umsatzes.

Auch bei dem Messungsverfahren mittels der Tropfmethode ergab sich die Wirkungslosigkeit sowohl des Atoxyls wie auch des Chinins in einem Bereich von 2 mg bis zu 0,002 mg gegenüber 1 mg Ferment-Präparat, wie auch an nachstehender Tabelle veranschaulicht wird.

Lösung:	A.Tr.	E.Tr.
10 ccm Tributyrinlösung 1 mg Fermentpräparat.	161	121
+ 2 mg Chinin	161	121,5
+ 0,2 mg Chinin	161	121
+ 0,02 mg Chinin	161	122
+ 0,002 mg Chinin	161	121
+ 2 mg Atoxyl	161	121
+ 0,2 mg Atoxyl	161	120,5
+ 0,02 mg Atoxyl	161	121,5
+ 0,002 mg Atoxyl	161	121

A.Tr. = Ausgangstropfzahl
E.Tr. = Endtropfzahl nach einer Stunde.

Es sei hier noch bemerkt, daß der Ablauf der Tributyrinspaltung bei Zusatz von 2 mg Chinin ganz gering verzögert verlief. Die Tropfzahl nach einer Stunde jedoch wies gegenüber den andern Endwerten keinen Unterschied auf.

Die in viertelstündlichen Intervallen abgenommenen Zwischenwerte zeigten mit Ausnahme dieses erwähnten einen Wertes keinen Unterschied.

IX. Zeit — Mengenbeziehung. Wirkungsstärke der Präparate.

Fermentmenge:	Zeit in Minuten.	A. Tr.	E. Tr.	Produkt aus Zeit und Menge.
2 mg	3 3/4	154	109	7,5
1 mg	7 1/2	154	108	7,5
0,5 mg	15	154	108	7,5
0,25 mg	30	154	109	7,5
0,125 mg	50	154	108	7,5
0,0625 mg	120	154	107	7,5
0,03125 mg	240	154	108	7,5

A. Tr. = Ausgangstropfzahl.
E. Tr. = Endtropfzahl nach Zeit.

Wie ersichtlich ist, ist das Produkt aus Zeit und Menge bei Zugrundelegung einer bestimmten Abnahme der Tropfzahl von 46 Tropfen in strengem Sinne konstant.

Hiernach ist es möglich, Lipaseeinheiten und Lipasewerte, B- und L-Werte im Sinne Willstätters zu berechnen.

Unter Lipsaeeinheit versteht Willstätter die geringste Menge eines Fermentpräparates, welche eine Verminderung der Tropfzahl in einem Volumen von 60 ccm einer Tributyrinlösung um 20 Tropfen in 50 Minuten bei Zimmertemperatur bewirkt.

Unter Lipasewert werden die Lipaseeinheiten im Zentigramm verstanden.

Es wurden mehrere Fermentpräparate verschiedener Gallen untersucht.

Nachstehende Tabelle gibt die B-Werte im Sinne Willstätters wieder.

Fermentbezeichnung	Eine Butyraseeinheit ist enthalten in:	Lipasewert (B)
A.	0,054 mg	185,18
G.	0,0375 mg	266,67
I.	0,068 mg	144,96
K.	0,057 mg	175,27

Es muß hervorgehoben werden, daß wir die Spaltung nicht bei pH 8,6 einleiten konnten, weil hierbei die hier untersuchte Lipase gehemmt ist, sondern bei pH 8,0. Auch mußten Aktivatoren wie Calciumchlorid + Albuminlösung ebenfalls weggelassen werden, weil diese auch hemmen.

Demnach schwankt also die Lipaseeinheit für Tributyrinspaltung zwischen 0,0375 mg und 0,068 mg und der jeweils dazugehörige Lipasewert zwischen 144,96 und 266,67 Butyraseeinheiten im Zentigramm.

Nebenbei sei noch erwähnt, daß noch viel stärker wirkende Präparate zur Untersuchung gelangten. Sie sind tabellarisch deshalb hier nicht aufgeführt, weil keine vergleichbaren Oelwerte vorliegen. So betrug die Lipaseeinheit für ein Präparat 0,015 mg und der zugehörige Lipasewert 666,67 Butyraseeinheiten im Zentigramm.

Für die Oelspaltung ergeben sich bei Zugrundelegung der Arbeitsvorschriften Willstätters die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Lipaseeinheiten und -werte:

Ferment-bezeichnung	Präparat-menge	Oelspltg. in %	1 Lipaseeinheit ist in mg Präparat enthalten:	Lipasewert in 10 mg
A.	34 mg	11,02 %	74,2 mg	0,14
G.	50 mg	25,40 %	47,2 mg	0,21
I.	73 mg	18,90 %	92,7 mg	0,11
K.	80 mg	27,80 %	69,1 mg	0,14

Unter einer Lipaseeinheit für Olivenöl versteht man diejenige Fermentmenge die unter bestimmten Bedingungen von 2,5 g Olivenöl innerhalb einer Stunde 24% aufspaltet.

Die Lipaseeinheit der hier untersuchten Fermentpräparate schwankt also zwischen 47,2 mg und 92,7 mg und die dazugehörigen Lipasewerte (L-Werte) zwischen 0,11 und 0,21 L-Einheiten im Zentigramm.

X. Frage der Identität von Leberlipase und Gallenblasenlipase.

Wenn man sich die Frage nach der Herkunft der Lipase der Schafgalle vorlegt, so ist der nächstliegende Gedanke der, daß die Leber diese Lipase bildet. Es muß zugegeben werden, daß es höchst merkwürdig ist, daß sich Leberlipase dann gerade in der Schafgalle finden sollte, während sie in den zahlreichen andern oben aufgeführten Gallen nicht vorgefunden wird.

Die Wirkung der Schafgallenlipase ist gegenüber Tributyrin viel stärker als gegenüber echten Fetten, allerdings nicht in dem Maße, wie dies bei der Leberlipase des Schweins der Fall ist.

Nach Willstätter und Memmen[5] beträgt das Verhältnis von Tributyrin- und Oelspaltung $B_1E : L_1E$ bei Leberesterase 23 600 (Schwein). Beim Pancreas verschiedener Tiere bewegt sich dieses Aequivalent von BE : LE zwischen 1000 und 161.

Die nachfolgende Tabelle gibt die Verhältniszahlen BE : LE der hier untersuchten Schafgallenlipase wieder:

Ferment-bezeichnung.	Verhältniszahlen von Butyrase — (B) und Oeleinheiten (L).		
A.	B : L = 185,18	: 0,14	= 1302,5
G.	B : L = 266,67	: 0,21	= 1263,8
I.	B : L = 144,96	: 0,11	= 1354,8
K.	B : L = 175,27	: 0,14	= 1217,15

Wie ersichtlich bewegt sich das Aequivalent von BE: LE zwischen 1217,5 und 1354,8, also bei Werten, die der Pankreaslipase sehr viel näher stehen als der Leberlipase.

Mit den Eigenschaften der Leberesterase bei dem hier untersuchten Präparat stimmt überein, daß die Tributyrinspaltung durch Albumin und Calciumchlorid eine Hemmung erfährt, wie dies auch unseren Beobachtungen entspricht.

Hinsichtlich der Giftwirkungen stimmt mit den Eigenschaften der Leberlipase weiterhin die Empfindlichkeit gegenüber Natriumfluorid überein.

Ein deutlicher Unterschied gegenüber den bis jetzt bekannten Leberlipasen ist der, daß das hier untersuchte Fermentpräparat durch Atoxyl nicht nennenswert gehemmt wird, während jene durch Atoxyl eine hochgradige Hemmung erfuhren.

Rona und Petow[6] hielten diese Eigenschaft für ein immanentes Charakteristikum des Fermentes, weil sie dieselbe auch an gereinigten Lipasen auffinden konnten. Im Gegensatz hierzu sind Willstätter und Memmen[5] der Meinung, daß bei den Giftversuchen Rona's auch die begleitenden Fremdstoffe von wesentlicher Bedeutung sind. Es konnte z. B. gegen Chinin unempfindliche Lipase und fermenthaltige Glycerinextrakte durch Albuminzusatz chininempfindlich gemacht werden. Die in dieser Richtung durch uns angestellten Versuche mit Lipase aus Schafgalle verliefen allerdings nicht in diesem Sinne, Albuminzusatz veränderte die Unempfindlichkeit gegen Chinin und Atoxyl nicht, ebenso wenig Kalkzusatz.

Hinsichtlich des Verhaltens der Leberesterase gegen Atoxyl fanden die genannten Autoren die bemerkenswerte Eigenschaft, daß mit fortschreitender Reinigung die Atoxylhemmung zunahm. Die mit unserm gereinigten Präparat, das keine Gallensäure- und Farbstoffproben mehr zeigte, angestellten

Versuche wichen auch in dieser Hinsicht ab. Wenn das hier studierte Ferment also Leberlipase darstellt, so würde sie das höchst auffällige Verhalten darbieten, daß sie unempfindlich gegen Atoxyl ist.

Ob man dieses Verhalten als bestimmend dafür ansieht, die Herkunft der Schafgallenlipase aus der Leber zu negieren, hängt davon ab, ob man sich den Standpunkt zu eigen macht, daß die Vergiftbarkeit an der Wirkungsgruppe des Fermentes haftet, oder den, daß sie an der Trägergruppe verankert ist. (Angriffspunkt am Agon oder Pheron.) Die Auffassung Willstätters scheint mehr zur letzteren Möglichkeit hinzuneigen.

Es wurde versucht, die Entscheidung über die Herkunft der Lipase in der Blasengalle des Schafes durch eine Untersuchung der Gallenblasenschleimhaut selbst zu fällen. Diese ist der einzige Ort, der eine Lipase erzeugen könnte, wenn diese nicht aus der Leber selbst stammen soll.

Wir haben einen solchen Versuch durchgeführt. Gesäuberte Gallenblasenschleimhaut des Schafes wurde mit einer 4fachen Gewichtsmenge Glycerin 10 Tage lang extrahiert. Mit diesem Extrakt wurde auf Tributyrin- und Milchfettspaltung untersucht. Es zeigte sich tatsächlich, daß der Gallenblasenschleimhautextrakt eine Lipase enthält. Es wurden mit 0,1 ccm Glycerinextrakt 10 ccm gesättigter Tributyrinlösung innerhalb einer Stunde fast völlig aufgespalten, während mit 11 ccm Glycerinextrakt auf 10 ccm Edelweißmilch eine Fettspaltung von 35% erzielt wurde.

Nach diesem Ergebnis könnte man zu der Ansicht neigen, daß die Gallenblasenschleimhaut selbst die Lipase produziert. Diese Ansicht ist aus zwei Gründen zweifelhaft:

1. Der Glycerinextrakt ist bei weitem nicht so wirksam — wie Umrechnungen zeigen — wie zu erwarten wäre, wenn die Gallenblasenschleimhaut selbst die Produktionsstätte wäre. Die Konzentration von fettspaltendem Ferment beträgt in der Mukosa der Gallenblase für Butyrase nur 1/10 und für Lipase (ölspaltendes Ferment) nur 1/6 gegenüber der Konzentration von Butyrase und Lipase in der Blasengalle.

2. Von der Enterokinase ist es bekannt, daß sie aus dem Pancreas stammt und sich in den Darmzellen ablagert. In Analogie hierzu ist es wohl durchaus denkbar, daß sich auch die Gallenlipase in der Gallenblasenschleimhaut ablagern kann — eine Ansicht, die hier nicht bewiesen werden kann.

Aus den zu Eingang dieses Kapitels und den zuletzt angeführten Gründen halten wir es für sehr wahrscheinlich, daß die Lipase der Blasengalle des Schafes trotz einiger Widersprüche zum Verhalten der bisher untersuchten Leberlipasen aus der Leber selbst stammt.

XI. Zusammenfassung.

Durch die fettspaltende Wirkung der Blasengalle des Schafes wird bewiesen, daß diese eine Lipase enthält, die durch folgende Eigenschaften charakterisiert ist:

1. 0,2 ccm genuine Galle bzw. 20 mg Trockengalle spalten eine gesättigte Tributyrinlösung innerhalb einer Stunde zu rund 90% auf.

2. Einstündliche Erhitzung auf 50°, 60° und 70° setzen die Wirksamkeit des Fermentes auf die Hälfte, bzw. auf 1/4 bzw. auf 1/10 der ursprünglichen Wirkungsstärke herab.

3. Es besteht ein scharfes pH-Optimum bei pH 8.

4. Von den verschiedenen Fetten wird am besten Milchfett in Milch angegriffen; der Reihenfolge nach dann Butterfett, Tributyrin, Lorbeeröl, Olivenöl und Triacetin.

5. Das gereinigte und konzentrierte Ferment ist 1000fach so wirksam wie die Trockengalle.

6. Die Lipase wird in Beziehung zur Olivenölspaltung am besten durch 0,5 ccm Eieralbuminlösung 3% + 0,5 ccm Calciumchlorid 2% aktiviert, wobei Calciumchlorid allein die gleiche Wirkung hervorzubringen vermag, während der gleiche „Aktivator" in Beziehung zum Tributyrin eine Hemmung um mehr als 50% bewirkt. Eine restlose bzw. eindeutige Hemmung tritt nur bei Sublimat in den Konzentrationen von 100 mg bis 0,1 mg auf 10 mg Ferment ein, ebenso bei 20 mg Eisenchlorid und 100 mg Natriumfluorid. Cocain erweist sich als fast ungiftig.

Atoxyl und Chinin bewirken keine nennenswerte Hemmung.

Indifferent sind Alkohol, Aceton und Toluol in Konzentration von 7,7%, 8% und 1,36%.

7. Es besteht eine strenge Proportionalität zwischen Fettspaltungszeit und Fermentmenge.

Die Wirkungsstärke ist bei verschiedenen Gallen inkonstant. Die Lipaseeinheiten für Tributyrin- und Oelspaltung sind enthalten in Mengen zwischen 0,0375 mg und 0,068 mg bzw. zwischen 47,2 mg und 92,7 mg.

8. Die Lipase der Blasengalle des Schafes stammt größter Wahrscheinlichkeit nach aus der Leber.

Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, Herrn Professor Dr. Freudenberg, Direktor der Universitäts-Kinderklinik zu Marburg, für die Ueberlassung der Arbeit, für die Uebernahme des Referates und insbesondere auch für die mir gewährte freundliche Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1. Ellenberger und V. Hofmeister: Archiv für wissenschaftliche und praktische Tierheilkunde, Bd. XI.
2. Freudenberg: Zeitschr. f. Kinderheilkunde 55. 1933.
3. Willstätter und Memmen: Zeitschr. f. physiol. Chemie 129. 1923.
4. Freudenberg, Zeitschr. f. Kinderheilkunde 43. 1927.
5. Willstätter und Memmen: Zeitschr. f. physiol. Chemie 138. 1924.
6. Rona und Petow: Biochem. Zeitschr. 146. 1924.

Lebenslauf.

Am 4. Dezember 1910 wurde ich zu Duisburg am Rhein als Sohn des Fabrikdirektors Richard Töppler und seiner Ehefrau Anna geb. Möller geboren.

Nach Vollendung des 6. Lebensjahres trat ich in die III. Vorschulklasse des Steinbart-Realgymnasiums zu Duisburg ein. Am 16. Februar 1929 bestand ich dort die Reifeprüfung.

Im Sommersemester 1929 immatrikulierte ich mich, um Medizin zu studieren, an der Universität Marburg, an welcher ich meine ganze Studienzeit zubrachte. Im Herbst 1931 bestand ich hier mein Physikum und am 12. Januar 1935 mein Staatsexamen, beide Prüfungen mit dem Prädikat „sehr gut".

Vom 10. Februar 1935 bis 31. Juli war ich als Medizinalpraktikant an der Marburger Augenklinik tätig und vom 1. August bis jetzt genieße ich meine weitere Ausbildung in gleicher Eigenschaft an der hiesigen Kinderklinik.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren: Baur, Boeminghaus, Eimer, Freudenberg, Göppert, Grüter, Hildebrand, Kehrer, Klapp, Klewitz, Kretschmer, Nauck, Naujocks, Neumann, Pfannenstiel, Ruete, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé, Wiedhopf.